

## USO DEL PLASMA SEMINAL DE ALPACA SOBRE LA TASA OVULATORIA Y SOBREVIVENCIA EMBRIONARIA

Use of alpaca seminal plasma on ovulation rate and embryonic survival

Teodosio Huanca<sup>1</sup>, Rubén Mamani-Cato<sup>1</sup>, Julio Sumar<sup>2</sup>, Wilfredo Huanca<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instituto Nacional de Innovación Agraria, Perú.

<sup>2</sup> Universidad Nacional Mayor de San Marcos - IVITA, Perú.

E-mail:

teodosio\_huanca@yahoo.es

### RESUMEN

Los camélidos sudamericanos son especies domesticas adaptadas a la zona alto andina y son considerados especies de ovulación inducida. En estas especies, para que se produzca la liberación del ovocito, es necesaria una interacción neuroendocrina y la estimulación durante la cópula, que tiene una duración en promedio de 18 minutos. En los últimos años, diversos estudios han demostrado la presencia de un factor inductor de la ovulación que se encuentra en el plasma seminal del macho que es determinante para que se produzca la ovulación en los camélidos. A partir del año 1968 se iniciaron trabajos de investigación para confirmar y conocer detalle del factor inductor de la ovulación. Los trabajos realizados, demuestran que se produce la ovulación en alpacas luego de la aplicación intramuscular e intravaginal de plasma seminal. Estudios recientes, han demostrado el efecto luteotrópico de este factor, lo que se evidencia con el incremento y la permanencia de las concentraciones circulantes de LH y el cambio rápido en la vascularización del folículo preovulatorio y el desarrollo del cuerpo lúteo, contribuyendo al incremento de la tasa de sobrevivencia embrionaria, debido al estímulo que provoca esta hormona en la hipófisis para la liberación de LH, desencadenando un efecto luteotrópico adicional sobre el cuerpo lúteo con una mayor secreción de progesterona. A nivel de campo los resultados no son tan manifiestos en relación a los resultados que se obtiene cuando se realiza el seguimiento por ecografía. A pesar de ello, los trabajos realizados por diferentes grupos de investigación confirman el aporte del plasma seminal en el incremento de las tasas de fertilidad y sobrevivencia embrionaria en los camélidos domésticos como la alpaca y la llama.

**Palabras clave.** Plasma seminal, alpacas, tasa ovulatoria, sobrevivencia embrionaria

## ABSTRACT

The South American camelids are a domesticated species adapted to the high Andes, they are considered as a species of induced ovulation. In these species, so that the release of the oocyte occurs, a neuroendocrine interaction and stimulation during intercourse (which lasts on average 18 minutes) is necessary. In recent years, several studies have demonstrated the presence of an inducing factor for the ovulation found in the seminal plasma of the male that is crucial for ovulation to occur in camelids. From 1968 researches were initiated to confirm and determine the inductor factor. The works have shown that ovulation in alpacas occurs after intramuscular and intravaginal application of seminal plasma. Recent studies showed the luteotropic effect of this factor, which is evidenced by the increase and retention of circulating concentrations of LH, the rapid change in the vascularization of the pre-ovulatory follicle and corpus luteum development, this contributes to the increase of the embryonic survival rate, due to the stimulus that causes this hormone in the pituitary to release LH, triggering an additional luteotropic effect on the corpus luteum with increased secretion of progesterone. At the field level the results are not as manifest in relation to the results obtained when the ultrasound monitoring is performed. However, the work done by different research groups confirm the contribution of seminal plasma in increasing fertility rates and embryonic survival in domestic camelids such as alpaca and llama.

**Keywords.** Seminal plasma, alpacas, ovulation rate, embryo survival

## INTRODUCCION

Los camélidos sudamericanos de acuerdo a la clasificación planteada por Conaway (1971), son considerados especies de ovulación inducida. En estas especies, para que se produzca la liberación del ovocito es necesaria una interacción neuroendocrina, la cual es producto de la estimulación durante la cópula (San Martín *et al.*, 1968).

En los últimos años, diversos estudios han demostrado la presencia de un factor en el plasma seminal del macho que es determinante para que se produzca la ovulación en los camélidos. Chen *et al.* (1985) propuso la existencia de un factor inductor de ovulación en el plasma seminal de los camellos bactrianos, al encontrar ovulación en el 87% de hembras a las que previamente les había administrado plasma seminal por vía intramuscular. Basados en estos hallazgos y en la

relación filogénica entre especies, un estudio realizado por Ríos (1968), sugirió la presencia de un posible agente inductor de ovulación con un efecto fisiológico muy importante en la reproducción de los Camélidos Sudamericanos, reportando la ovulación en alpacas luego de la aplicación intravaginal de plasma seminal de machos vasectomizados; estudios posteriores demostraron el potente efecto luteotrópico de este factor, lo que se evidencia con el incremento y la permanencia de las concentraciones circulantes de LH y el cambio rápido en la vascularización del folículo pre ovulatorio y el cuerpo lúteo en desarrollo (Adams *et al.*, 2005; Ulloa-Leal *et al.*, 2014). Leyva y García (1999), reportaron que la administración de GnRH el día 5 post copula incrementa la tasa de supervivencia embrionaria, debido posiblemente al estímulo que esta hormona produce en la hipófisis para la liberación de LH, lo que produciría un efecto luteotrópico adicional sobre el cuerpo lúteo, con una mayor secreción de progesterona.

## Ovulación

La ovulación es provocada en todas las especies por un pico preovulatorio de LH. En los ovuladores espontáneos en presencia de bajos niveles de progesterona, el estradiol producido por el folículo dominante produce un efecto estimulador sobre el eje hipotálamo-hipofisario, induciendo la secreción de pulsos de LH cada vez más frecuentes lo que desencadenará una serie de eventos que tendrán por resultado la liberación del ovocito proveniente del folículo dominante (Hafez, 2002). El estradiol y la inhibina secretados por el folículo dominante inhiben la producción de FSH en la hipófisis sin afectar la producción de LH, a su vez el folículo dominante se vuelve totalmente sensible a la acción de la LH y alcanza su tamaño preovulatorio. Cuando el estradiol alcanza su máximo nivel plasmático, el hipotálamo es estimulado a liberar GnRH en pulsos crecientes lo que a su vez incrementa paulatinamente la liberación pulsátil de LH hasta llegar a un nivel máximo conocido como "pico preovulatorio de LH", el cual es el responsable de la secreción de PGE e Histamina, las que provocan el incremento de la permeabilidad vascular de los vasos de la teca interna y la edematización de esta zona. Luego del pico de LH, la teca interna produce progesterona la cual induce a producir colagenasa de acción local debilitando la túnica albugínea que rodea el ovario. El pico de LH estimula también la producción de PGF2a en el ovario la cual produce la contracción de la musculatura lisa del ovario provocando la liberación de los lisosomas de las células de la granulosa deteriorando aún más el tejido conectivo que envuelve la zona del ápex folicular. Todos estos mecanismos producirán la rotura de la pared del

foliculo y la consecuente liberación del ovocito (Richards, 2002).

En el caso de las especies de ovulación inducida los mecanismos que provocan la liberación del pico preovulatorio de LH no son del todo claras. Como en los ovuladores espontáneos la GnRH secretada por el hipotálamo controla los pulsos de LH. En un estudio realizado en llamas se demostró que el primer incremento significativo de los niveles plasmáticos de LH se produce entre 15 a 40 minutos después del inicio de la cópula, como consecuencia de un reflejo neuroendocrino. Los estímulos neuronales que desencadenan dicho reflejo involucran la estimulación de la cérvix durante la penetración, los sonidos emitidos por el macho y el contacto físico (Bravo, 1994; Fernández-Baca *et al.*, 1970a). El máximo pico de LH se presenta a las 2 ó 3 horas de la monta, retornando a niveles basales al cabo de 7 a 12 horas de la misma (Aba, 1998; Aba y Forsberg, 1995; Bravo *et al.*, 1990; 1992). Recientemente se ha determinado la presencia en el semen de un factor inductor de la ovulación de naturaleza proteica de una masa molecular de 14 KDa, y 12-23 AA, cuyo efecto es luteotrópico (Adams y Ratto, 2001; Chen *et al.*, 1985, Ratto *et al.*, 2012). La ovulación como respuesta a la cópula requiere como requisito indispensable que el foliculo dominante tenga un diámetro mayor a los 6 mm y se encuentre en fase de crecimiento (Adams *et al.*, 1990). Se ha observado que cuando el diámetro folicular es menor o el foliculo se encuentra en fase de regresión, la ovulación no se produce (Bravo *et al.*, 1991). La ovulación se produce con similar frecuencia en ambos ovarios (Bravo *et al.*, 1993; 1995; Fernández-Baca *et al.*, 1970a). A pesar de que la mayor parte de las gestaciones se producen en el cuerno izquierdo no se ha demostrado el hecho que si el ovocito proviene del ovario izquierdo determine mayor probabilidad de preñez (Vaughan *et al.*, 2003). Si bien se sabe que en los camélidos sudamericanos existen ovulaciones múltiples (Bravo *et al.*, 1993; Fernández-Baca *et al.*, 1970a), no se han reportado partos múltiples (Fernández Baca, 1974; San Martín *et al.*, 1968). En llamas y alpacas se ha reportado la existencia de ovulaciones espontáneas en un rango del 3.5 % cuando los folículos preovulatorios tienen un diámetro mayor a 6mm (Bravo y Sumar, 1989). Esta situación se produce cuando hay contacto físico entre hembras y machos, y como producto de la manipulación del tracto reproductivo de la hembra durante las ecografías tras rectales (Ratto *et al.*, 1997; Sumar, 1994).

### Reconocimiento maternal de la preñez y gestación

En alpacas el largo de gestación en promedio es de 342 y 345 días para Huacaya y Suri respectivamente (San

Martín *et al.*, 1968), en las llamas dura  $350 \pm 4.5$  días (León *et al.*, 1990). Procesos previos a la fecundación como la maduración del ovocito y el espermatozoide y la reacción acrosómica no han sido estudiados a profundidad en los camélidos, pero se asume que deben ser similares al resto de especies. Después de la cópula los espermatozoides se dirigen hacia la unión útero - tubal, sitio que constituye el principal reservorio de espermatozoides en las alpacas y se quedan ahí hasta por 30 horas (Bravo *et al.*, 1996). Luego de producirse la fecundación en el oviducto el desarrollo siguiente del embrión es bastante rápido, es así que después de 4 días después de la cópula se pueden encontrar embriones de 4 a 8 células (Bravo *et al.*, 1996). Los embriones llegan al cuerno uterino a los 5 ó 6 días de la ovulación en forma de blastocitos en eclosión o recién eclosionados (Del Campo *et al.*, 1995), comienzan a elongarse entre los días 9 y 10 y se establece un estrecho contacto entre el trofoblasto y el endometrio en el día 12 de la gestación (Tibary, 2001).

Fernández-Baca *et al.* (1970), demostró que de 25% a 50% de los embriones mueren durante los primeros 30 días de gestación sin una causa determinada. Una de las causas que podría explicar este hecho, es que a pesar de que ambos ovarios contribuyen de manera similar a la producción de ovocitos, muy pocos de los embriones implantados en el cuerno derecho son capaces de sobrevivir al día 30 de gestación y ninguno consigue sobrevivir a partir del día 87. Otra posible causa sería el hecho de que en ambos cuernos los mecanismos involucrados en el reconocimiento maternal de la preñez sean distintos. El embrión inicia la implantación el día 14 post-ovulación y empieza en el cuerno izquierdo y luego se extiende hacia el cuerno derecho, sin embargo las interdigitaciones que se forman entre las células epiteliales del endometrio y el trofoblasto del embrión solo aparecen en el cuerno izquierdo y no así en el derecho. Estas zonas al parecer facilitan el reconocimiento maternal de la preñez y luego el intercambio gaseoso entre la madre y el feto (Skidmore *et al.*, 1996; Olivera *et al.*, 2003). La placenta de los camélidos es del tipo epiteliocorial y no presenta cotiledones como zonas específicas de fijación como sucede en los rumiantes. El epitelio del corion muestra numerosas proyecciones semicirculares que se unen a sus correspondientes depresiones en la mucosa uterina (Stevens *et al.*, 1980; Fowler, 1989; Smith, 1985).

Los camélidos son las únicas especies en la que existe una membrana fetal extra, que deriva de la epidermis y recubre la totalidad de la superficie fetal fijándose a las mucosas de la nariz, labios, ojos, ano, prepucio y vulva y su función se cree sería la de lubricación durante el parto, facilitando la salida de feto (Fowler y Olander,

1990). No se sabe con toda precisión como se produce el reconocimiento maternal de la preñez en estas especies, sin embargo el hecho de que el 98% de las gestaciones se localicen en el cuerno izquierdo a pesar de que el cuerpo lúteo se presente de manera homogénea en ambos ovarios y que los embriones que inician su existencia en el cuerno derecho tengan que migrar hacia el cuerno izquierdo, nos indican que los Camélidos Sudamericanos presentan un mecanismo de control de la luteolisis diferente a los rumiantes. De manera similar como sucede en los porcinos, se cree que el estradiol es usado como señal para el reconocimiento maternal de la preñez.

Estudios realizados en dromedarios por Skidmore *et al.*, (1994) demostraron que los blastocistos presentan una elevada actividad aromatasa con la respectiva síntesis de estrona y estradiol entre los días 10 a 13 después del coito. De igual manera Powell *et al.*, (2007), demostró que los blastocistos de llama producen cantidades crecientes de  $17\beta$ -estradiol entre los días 7 y 15 de gestación, con un marcado incremento entre los días 11 y 13, justo cuando el blastocisto se alarga. En el mismo estudio se demostró que la aplicación diaria de 10 mg de benzoato de estradiol entre los días 7 y 15, provoca un retraso en la luteolisis y el mantenimiento de la secreción de progesterona, por lo que se asume que la secreción de estradiol, podría significar la señal para el reconocimiento maternal de la gestación en las llamas y alpacas. Se cree además, que el estradiol podría intervenir en la migración del embrión al cuerno contra lateral, al provocar un incremento local de la contractilidad miometrial. En las llamas y alpacas, el cuerpo lúteo es necesario durante la totalidad de la gestación (Sumar, 1988) y su eliminación o la administración de PGF<sub>2a</sub> o de sus análogos provocan la interrupción de la gestación a las 24 a 72 horas en cualquier etapa de la misma (Smith *et al.*, 2000; Sumar, 1988a). Los niveles séricos de progesterona se mantienen por encima de los 2 ng/ml durante toda la gestación, con ligeras fluctuaciones y con una reducción ligera durante las dos últimas semanas de gestación, sin embargo, 24 horas antes del parto la caída de progesterona es abrupta (Aba, 1998; León *et al.*, 1990). En un estudio realizado en alpacas sugieren que la aplicación intramuscular de plasma seminal inmediatamente después de la monta determina un incremento porcentual de la supervivencia embrionaria en comparación a la aplicación de GnRH o la monta natural, sin embargo dicha diferencia no es estadísticamente significativa (Turín, 2014). La importancia de la progesterona durante la preñez radica en que induce la quietud del miometrio, bloqueando el efecto inductor de receptores adrenérgicos del estradiol.

## Plasma seminal e inducción de ovulación

El plasma seminal facilita el transporte de los espermatozoides a través del tracto reproductor masculino y femenino durante la copula, además contiene proteínas, citoquinas, factores de crecimiento y hormonas que tiene efecto sobre los espermatozoides y las funciones del tracto reproductivo de la hembra. Chen *et al.* (1985), reportó que el 87% de camellos bactrianos hembras a las cuales inseminó con plasma seminal ovularon sin haber copulado. A partir de este descubrimiento se ha venido investigando el papel del plasma seminal sobre la inducción de la ovulación (Ratto *et al.*, 2006). Tomando como base lo descubierto por Chen (1985) y la relación filogénica de los camellos del viejo y los camélidos sudamericanos, Ríos (1989), inseminó a alpacas hembras a nivel intravaginal con semen de toros y alpacas enteros y plasma seminal de alpacas machos vasectomizados, induciendo a ovulación a las hembras inseminadas con semen de machos enteros, sugiriendo la existencia de un factor inductor de la ovulación en el semen de alpaca y toro mas no en el plasma seminal de machos vasectomizados.

Pan *et al.*, (2001) demostraron la existencia de una proteína asociada a la liberación de LH en el plasma seminal en camellos y cuya estructura molecular es completamente diferente a las formas nativas de LhRH, LH, HCG, PMSG y PGF-2 $\alpha$ , pero si tiene una bioactividad similar al GnRH. Investigaciones anteriores han demostrado la existencia de un factor inductor de ovulación (FIO) de naturaleza proteica compatible con la neurotrofina conocida como Factor de Crecimiento Neural  $\beta$  ( $\beta$ -NGF), (Ratto *et al.* 2012 y Kershaw-Young *et al.* 2012), de una masa molecular de 13.2KDa, y 12-23 AA (Ratto *et al.* 2012), presente en el plasma seminal de camélidos, porcinos, bovinos, roedores e incluso en los humanos. En la mayoría de estas especies se demostró su capacidad de inducir ovulación y su potente acción luteotrópica, siendo esta actividad reportada por Adams *et al.* (2005), Palian (2010) y Ulloa-Leal *et al.* (2014). En diversos estudios se sugiere de manera consistente que esta proteína tiene propiedades luteotrópicas ya que se ha determinado que los cuerpos lúteos desarrollados después de la administración de plasma seminal (Adams *et al.*, 2005; Palian, 2010) o FIO purificado (Silva *et al.*, 2011; Ulloa-Leal *et al.*, 2014) segregan sistemáticamente más progesterona que los inducidos después de aplicar GnRH. La secreción de LH a partir de células de pituitaria cultivadas in vitro, después del tratamiento con plasma seminal de alpaca sugirió que el factor inductor de ovulación presente en el plasma seminal tiene un efecto similar a la GnRH a este nivel, pero que sin embargo no se trata de la misma molécula ya que

inducen la liberación de LH de la hipófisis en diferente proporción, mayores estudios se requieren para dilucidar la manera precisa como el Factor Inductor de Ovulación actúa sobre la hipófisis (Paolicchi *et al.*, 1999; Bogle *et al.*, 2012). Estudios llevados a cabo por Adams *et al.* (2005) ratificaron lo expuesto por Ríos (1985), al experimentar con llamas y alpacas hembras, aplicando por vía intramuscular plasma seminal de alpaca, plasma seminal de llama y solución salina, logrando la ovulación en las hembras que fueron tratadas con inyección intramuscular de 1 a 1,5 ml de plasma seminal de alpaca o llama. Además se comparó el efecto inductor del plasma seminal versus la aplicación de un análogo de GnRH, encontrándose que la elevación en la concentración plasmática de LH inducida por la aplicación intramuscular de plasma seminal fue mayor y perduró más tiempo que la provocada por la aplicación IM de GnRH. Además, el cuerpo lúteo formado después del tratamiento con plasma seminal fue más grande que el cuerpo lúteo formado por inducción de ovulación por GnRH. La concentración de progesterona plasmática fue dos veces mayor en el grupo tratado con plasma seminal en comparación a las tratadas con GnRH. El tiempo promedio desde la aplicación de tratamientos hasta la ovulación fue de  $29,3 \pm 0,7$  horas. Estos estudios documentaron claramente la existencia de un factor inductor de la ovulación en el plasma seminal de llamas y alpacas, y sugieren además, que el FIO y la GnRH son moléculas diferentes. Otro estudio determinó que el efecto del plasma seminal es a nivel sistémico y no local (Ratto *et al.*, 2005). En este estudio, un grupo de alpacas hembras fueron tratadas con 2 ml de plasma seminal por vía intramuscular, otro grupo por infusión intrauterina y un tercer grupo por infusión intrauterina seguido por legrado endometrial. La proporción de hembras que ovularon fue mayor en el grupo tratado por vía intramuscular (93%) en comparación con el grupo tratado de forma intrauterina (41%), mientras que el grupo tratado con infusión intrauterina y curetaje endometrial mostro un porcentaje intermedio entre los dos grupos anteriores (67%). Este estudio sugiere que el legrado endometrial puede facilitar la absorción del factor de inducción de la ovulación.

Se ha demostrado la presencia del factor inductor de ovulación en el plasma seminal de las especies de ovulación espontánea (Ratto *et al.*, 2006; López *et al.*, 2006; Pan. 1992; O'Leary, 2006; Bogle *et al.*, 2011), no siendo del todo clara aun la función que cumple en estas especies (Tribulo, 2012). En un estudio realizado en alpacas utilizando GnRH, plasma seminal y GnRH+cópula fue de 78.67, 88.89 y 89.36% respectivamente, no mostrando diferencia significativa; en tanto que en llamas las tasas de ovulación fueron de 80.56, 70% y 73.33% y tampoco se evidencia

diferencia significativa (Huanca *et al.*, 2013). Se ha sugerido que un número considerable de llamas llego a ovular al ser previamente inyectadas con plasma seminal de toros (Ratto *et al.*, 2006; López *et al.*, 2006). El efecto sobre la ovulación del plasma seminal de los verracos depositado en el útero de las marranas no es aun del todo conocido. Sin embargo los estudios sugieren que los efectos del plasma seminal en la función ovárica pueden contribuir al éxito reproductivo en las cerdas, ya que al parecer no afectan el número de ovulaciones pero si determinan un incremento en el tamaño del cuerpo lúteo y un aumento en la concentración plasmática de progesterona (O'Leary *et al.*, 2006). En estudios recientes en alpacas (Kershaw-Young *et al.*, 2012), y en llamas (Ratto *et al.*, 2012) se logró realizar la caracterización molecular y la identificación del factor inductor de ovulación, demostrando su naturaleza proteica de una masa molecular de 13.2 KDa, y 12-23 AA (Ratto *et al.* 2012), la cual es compatible con la neurotrofina conocida como Factor de Crecimiento Neural  $\beta$  ( $\beta$ -NGF). El mecanismo por el cual esta proteína induce la ovulación está mediado por un efecto directo a nivel central en el eje hipotálamo – hipofisario, estimulando la secreción hipofisaria de LH por una acción anterior sobre las neuronas de GnRH del hipotálamo (Silva *et al.*, 2011), siendo este efecto parcialmente modulado por la concentración periférica de estradiol (Silva *et al.*, 2012), y dependiente de la dosis del FIO que indujo la ovulación (Tanco *et al.*, 2011).

De acuerdo con Tanco *et al.* (2011), 1/200 va parte de la concentración total del FIO de un eyaculado promedio, correspondiente a 60  $\mu$ g de OIF purificado, es la dosis mínima que una vez administrada vía IM, induce una buena tasa de ovulación y el consiguiente buen desarrollo del cuerpo lúteo. Reyna (2013), encontró que la dilución 1:8 (vol./vol.) de plasma seminal de alpaca en PBS, es la dilución mínima para producir ovulación. En cuanto al estradiol se ha demostrado que sus niveles son bajos al inicio de la gestación, para luego incrementarse a lo largo del tiempo que dura la gestación, alcanzando sus máximos niveles en el último mes, para finalmente sufrir un brusco descenso luego del parto (Aba *et al.*, 1995a; Aba *et al.*, 1998). Se ha establecido que la neurotrofina  $\beta$ -NGF, se une a sus receptores p75 NGFR y tirosina Kinasa A (trkA) para promover el crecimiento, el mantenimiento, la proliferación y la diferenciación de las células de la teca y la granulosa de los folículos pre antrales y antrales, de manera independiente a la acción de las gonadotrofinas (Tesarollo, 1998); todo esto sugiere que  $\beta$ -NGF cumple una función determinante en la regulación del desarrollo de la función reproductiva (Dissen *et al.* 2001). Salas *et al.* (2006), al investigar con células de granulosa humana

cultivadas *in vitro*, encontró que tenían la capacidad de responder al  $\beta$ -NGF, regulando la esteroidogénesis (inhibiendo la luteinización *in vitro*) y aumentando la expresión de receptores para FSH. Se ha demostrado además, que  $\beta$ -NGF, participa en la angiogénesis que acompaña al desarrollo folicular y a la formación del cuerpo lúteo a través del aumento de la expresión del factor de crecimiento de endotelio vascular (VEGF) en las células de la granulosa, determinando una mayor vascularización del cuerpo lúteo (Ulloa-Leal *et al.* 2014), lo que a su vez, explicaría porque hay una mayor liberación de progesterona en las hembras tratadas por vía IM con plasma seminal o FIO purificado, a pesar de que el máximo diámetro alcanzado por el cuerpo lúteo sea el mismo que el encontrado luego de la aplicación de GnRH como inductor de ovulación. Con todas estas consideraciones podemos inferir que el FIO, al ser un homólogo del  $\beta$ -NGF, podría tener efecto local en el ovario.

#### Porcentaje de fertilidad a nivel de campo utilizando plasma seminal y GnRH en alpacas

Con el objetivo de evaluar el efecto del plasma seminal y GnRH sobre el porcentaje de fertilidad en alpacas, se utilizaron 95 alpacas hembras sin cría al pie y con historial reproductivo óptimo, el criterio de selección se basó en la receptividad de la hembra al macho. Todas las hembras recibieron el mismo manejo y fueron alimentadas con pastura natural. Los animales se distribuyeron al azar en tres grupos experimentales: G1 (n=15) 1 mL de plasma seminal diluido 1:1 (v/v) con PBS por vía intramuscular; G2 (n=30) 1ml de un análogo de GnRH (0.0042 mg de acetato de buserelina) por vía intramuscular y G3 (n=50) grupo control con 1 mL de PBS por vía intramuscular. El diagnóstico de fertilidad fue evaluado a los 22.53 días en promedio después del servicio a través de ecografía transrectal. Los resultados muestran una tasa de fertilidad de 46.67, 46.67 y 54% para los grupos G1, G2 y G3 respectivamente ( $p \geq 0.05$ ). Luego de ello a las alpacas que no quedaron preñadas fueron empadradas por segunda vez pero sin la aplicación de ningún inductor de ovulación y se hizo el diagnóstico de fertilidad a los 20.52 días en promedio después del segundo servicio y los porcentaje de fertilidad fueron de 50, 68.75 y 60.87% para los grupos G1, G2 y G3 respectivamente ( $p \geq 0.05$ ). El análisis estadístico también muestra no existe diferencia significativa entre el porcentaje de fertilidad al primer servicio comparado con el segundo servicio, dentro de cada grupo ( $p \geq 0.05$ ). Se concluye que el plasma seminal y la GnRH no influyen significativamente sobre el porcentaje de fertilidad en alpacas que mostraron receptividad al macho, en condiciones de campo.

## CONCLUSIONES

El plasma seminal posee un factor inductor de la ovulación y esta contribuye en el incremento de las tasas de fertilidad y sobrevivencia embrionaria en los camélidos domésticos como la alpaca y la llama

## REFERENCIAS

- Aba M, Forsberg M, Kindahl H, Sumar J, Edqvist L. Endocrine changes after mating in pregnant and non-pregnant llamas and alpacas. *Acta Vet. Scand.* 1995. 36:489-498.
- Aba M, Sumar J, Kindahl H, Forsberg M, Edqvist L. Plasma concentrations of 15-ketodihydro-PGF (2-alpha), progesterone, estrone sulfate, estradiol -17-beta and cortisol during late-gestation, parturition and the early postpartum period in llamas and alpacas. *Animal Reproduction Science.* 1998, 50: 111-121.
- Adams G, Sumar J, Ginther O. Effects of lactational and reproductive status on ovarian follicular waves in llamas (*Lama glama*) J. *Reproduction and Fertility.* 1990. 90:535-545.
- Adams G, Ratto M, Huanca W, Singh J. Ovulation-Inducing Factor in the Seminal Plasma of Alpacas and Llamas. *Biol Reprod.* 2005. 73: 452 – 457.
- Bogle O, Ratto M, Adams G. Evidence for the conservation of biological activity of ovulation-inducing factor in seminal plasma. *Biol Reprod.* 2011. 142: 277–283.
- Bogle O, Ratto M, Adams G. Ovulation-inducing factor (OIF) induces LH secretion from pituitary cells. *Animal Reproduction Science,* 2012. 133: 117–122.
- Bravo W, Sumar J. Laparoscopic examination of the ovarian activity in alpacas. *Anim Reprod Sci.* 1989. 21: 271 – 281.
- Bravo W, Fowler M., Stabenfeldt GH, Lasley B. Ovarian follicular dynamics in the llama. *Biology Reproduction.* 1990. 43: 579-585.
- Bravo W, Stabenfeldt G, Lasley B, Fowler M. The effect of ovarian follicular size on pituitary and ovarian responses to copulation in domesticated South American camelids. *Biol. Reprod,* 1991. 45: 553-559.
- Bravo W, Varela MH.. Prenatal development of the alpaca (*Lama pacos*). *Anim. Reprod Sci.* 1993, 32: 245-252.
- Bravo WM, Fowler ME, Lasley BL. The postpartum llama: fertility after parturition. *Biol. Reprod.* 1994. 51: 1084-1087.
- Bravo W, Lasley B, Fowler M. Resumption of ovarian follicular activity and uterine involution in the

- postpartum llama. *Theriogenology*. 1995. 44: 783-791.
- Bravo W, Moscoso J, Ordoñez C, Alarcón V. Transport of spermatozoa and ovarian in female alpaca. *Anim. Reprod. Sci.* 1996. 43: 2 – 3.
  - Conaway CH. Ecological adaptation and mammalian reproduction. *Biol Reprod* 1971. 4(3): 239-247.
  - Chen B, Yuen Z, Pan G. Semen-induced ovulation in the Bactrian camel (*Camelus bactrianus*) *J Reprod Fert.* 1985. 73: 335 – 338.
  - Del Campo MR, Del Campo CH, Adams GP. The application of new reproductive technologies to South American camelids. *Theriogenology*. 43: 21 – 30.
  - Dissen G, Romero C, Hirshfield A, Ojeda S. Nerve growth factor is required for early follicular development in the mammalian ovary. *Endocrinology*, 2001. 142(5): 2078-2086.
  - Fernández - Baca S, Novoa C. Conducta sexual de la alpaca (*Lama pacos*) en empadre a campo. A.L.P.A. 1968. Memoria. 3: 7-20.
  - Fernández-Baca S, Maden DH, Novoa C. Effect of different mating stimuli on induction of ovulation in the alpaca. *J. Reprod. Fert.* 1970a. 22: 261-267.
  - Fernández Baca S., Hansel W., Novoa C. 1970b. Embryonic mortality in the alpaca. *Biol. Reprod.* 3: 243 – 251.
  - Fernández-Baca S, Hansel W, Novoa C. Corpus luteum functions in the alpaca. *Biol. Reprod.* 1970c. 3:252-261.
  - Fernández-Baca S, Novoa C, Sumar J. Actividad reproductiva en la alpaca mantenida en separación del macho. *Mem. ALPA.* 1972. 7: 7-18.
  - Fernández-Baca S, Novoa C, Sumar J. Pubertad en alpacas. *Avances de Investigación. Bol. de Div. N° 15 IVITA UNM San Marcos. Lima-Perú.* 1974. pp: 129-138.
  - Fernández-Baca S. Avances y perspectivas del conocimiento de los camélidos sudamericanos. *FAO. ONU. Chile.* 1991, p 1-3.
  - Fernández-Baca S. Manipulation of reproductive functions in male and female New World camelids. *Animal Reproduction Science.* 1993, 33: 307 – 323.
  - Fowler ME. *Medicine and surgery of South American Camelids. Llama, Alpaca, Vicuña, Guanaco.* Iowa State University Press, Ames. 1989.
  - Fowler M, Olander H. Fetal membranes and ancillary structures of llamas (*Lama glama*). *Am. J. Vet. Res.* 1990, 51: 1495-1500.
  - Fowler M, Bravo W. *Reproduction.* En: Fowler, M.E. (Ed), *Medicine and surgery of South American Camelids, Second Ed.* Iowa State University Pres. USA.1998. p381 – 429.
  - Galindo W. Efecto de eyaculaciones sucesivas sobre las características del semen de alpacas. Tesis de Médico Veterinario Zootecnista. Puno. Univ. Nac. del Altiplano. 1995, p 25.
  - Hafez B. *Reproducción e Inseminación Artificial en animales.* 7° ed. México. McGraw– Hill. 2000, 519 p.
  - Huanca T, Gonzales M, Mamani RH, Naveros M, Huanca W. Tasa de ovulación utilizando GnRH, plasma seminal y GnRH + cópula en alpacas y llamas del CIP-Quimsachata INIA – Puno *Spermova* 2012; 2(1): 61 - 62
  - Kershaw-Young C, Druart X, Vaughan J, Maxwell W.  $\beta$ -Nerve growth factor is a major component of alpaca seminal plasma and induces ovulation in female alpacas. *Reprod Fertil Dev*, 2012; 24:1093–7.
  - Leyva V, García W. Efecto de la progesterona exógena y endógena en alpacas en celo sobre la ovulación, fertilización y gestación. En: *Res. II Congreso Mundial sobre Camélidos, Cusco-Perú.* 1999; p 89.
  - López A, Huanca W, Leyva V. Inducción de la ovulación en llamas mediante la administración intramuscular del plasma seminal de llama, alpaca y toro. *Rev Inv Vet.* 2006; 17 (2): 114-18.
  - Oliveira L, Zago D, Leiser R, Jones C, Bevilacqua E. Placentation in the alpaca (*Lama pacos*) *Anat. Embryol.* 2003; 207: 45–62.
  - O'Leary S, Jasper MJ, Robertson SA, Armstrong DT. Seminal plasma regulates ovarian progesterone production, leukocyte recruitment and follicular cell responses in the pig. *Reproduction* 2006; 132(1):147-158.
  - Páñez S, Huanca W, Huanca T, Ratto M, Adams G. Efecto del sitio de deposición del plasma seminal sobre la tasa de ovulación y formación del cuerpo lúteo en alpacas. *Rev Inv Vet Perú.* 2009; 20 (1): 21-27.
  - Pan G, Zhao X, Chen B, Jiang S, Huang Y, Zu Y, Wang H. The ovulation inducing effect of seminal plasma in the Bactrian camel. En: *Proceedings of the First International Camel Conference.* Dubai. 1992.
  - Paolicchi F, Urquieta B, Del Valle L, Bustos O. Biological activity of the seminal plasma of alpacas, stimulus for the production of LH by pituitary cells. *Anim Reprod Sci.* 1999; 54: 203 – 210.
  - Powell S, Smith B, Timmb K, Menino A. Estradiol production by pre implantation blastocysts and increased serum progesterone following estradiol treatment in llamas. *Animal Reproduction Science* 2007; 102: 66–75.
  - Ratto M, Gatica R, Correa J. Timing of mating and ovarian response in llamas (*Lama glama*). *Animal Reproduction Science.* 1997; 48: 325-330.

- Ratto M, Huanca W, Singh J, Adams G. Local versus systemic effect of ovulation-inducing factor in the seminal plasma of alpacas. *Reprod Biol Endocrinol* 2005; 3:29.
- Ratto MH, Huanca W, Singh J, Adams GP. Comparison of the effect of ovulation-inducing factor (OIF) in the seminal plasma of llamas, alpacas, and bulls. *Theriogenology*. 2006; 66(5):1102-1106.
- Ratto M, Gomez C, Berland M, Adams G. Effect of ovarian super stimulation on COC collection and maturation in alpacas. *Animal Reproduction Science*. 2007; 97: 246-256.
- Ratto M, Delbaere L, Leduc Y, Pierson R, Adams G. Biochemical isolation and purification of ovulation-inducing factor (OIF) in seminal plasma of llamas. *Reprod Biol Endocrinol* 2012; 9:24.
- Reyna I. Efecto de cuatro diluciones de plasma seminal sobre la tasa de ovulación, tamaño del cuerpo lúteo y perfiles de progesterona en alpacas. Tesis de Médico Veterinario. Lima. Univ. Nacional Mayor de San Marcos. 2013.
- Ríos M. Presencia de un factor de inducción de la ovulación en el semen de alpaca y toro. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 1985; 30p.
- Salas C., Julio-Pieper M., Valladares M., Pommer R., Vega M., Mastronardi C., Kerr B., Ojeda SR., Lara HE., Romero C. 2006. Nerve growth factor-dependent activation of trkA receptors in the human ovary results in synthesis of FSH Receptors and estrogen secretion. *J Clin Endocrinol Metab*. 91(6):2396-403.
- San-Martin M, Copaira M, Zuniga J, Rodriguez R, Bustinza G, Acosta L. Aspects of reproduction in the alpaca. *J Reprod Fertil* 1968; 16(3):395-399.
- Silva ME, Smulders JP, Guerra M, Valderrama XP, Letelier C, Adams GP. Cetrorelix suppresses the pre ovulatory LH surge and ovulation induced by ovulation-inducing factor (OIF) present in llama seminal plasma. *Reprod Biol Endocrinol* 2011; 9:74.
- Silva ME, Recabarren MP, Recabarren SE, Adams GP, Ratto MH. Ovarian estradiol modulates the stimulatory effect of ovulation-inducing factor (OIF) on pituitary LH secretion in llamas. *Theriogenology* 2012; 77: 1873–1882.
- Skidmore J, Allen W, Heap R. Oestrogen synthesis by the peri-implantation conceptus of the one-humped camel (*Camelus dromedarius*). *J. Reprod. Fertil*. 1994; 101: 363-367.
- Skidmore JA, Wooding FB, Allen W. Placentation during the first 60 days of gestation in the dromedary camel (*Camelus dromedarius*). In: *Proceedings of the International Conference on Camelids: Science and Productivity*, 1996; vol. 4: 199-202.
- Sumar J. Removal of the ovaries or ablation of the corpus luteum and its effect on the maintenance of gestation in the alpaca and llama. *Acta Vet. Scand. Suplemento* 1988; 83: 133.
- Sumar J, Bravo PW, Foote WC. Sexual receptivity and time of ovulation in alpacas. *Small Ruminant Research*. 1993, 11, 143-150.
- Sumar J. Effects of various ovulation induction stimuli in alpacas and llamas. *J. Arid Environ*. 1994; 26: 39-45.
- Tanco M, Ratto M, Lazzarotto M, Adams G. Dose-Response of Female Llamas to Ovulation-Inducing Factor from Seminal Plasma. *Biol Reproduct* 2011; 85: 452–456.
- Tibary A. Fertilization, embryo and fetal development in camelids. In: *Proceedings of the Annual Conference of the Society for Theriogenology, Vancouver, BC, Canada, 12-15 September*. 2001; pp: 387-396.
- Tribulo P, Bogle O, Adams G. Bovine seminal plasma induces ovulation in llamas. *Reproduction, Fertility and Development*. 2012; 24(1): 176-177.
- Ulloa-Leal C, Bogle O, Adams G, Ratto M. Luteotrophic effect of ovulation-inducing factor/nerve growth factor present in the seminal plasma of llamas. *Theriogenology*. 2014; 81: 1101–1107.
- Vaughan JL, Macmillan KL, Anderson GA, D'Occhio MJ. Effects of mating behavior and the ovarian follicular state of female alpacas on conception. *Aust. Vet. J*. 2003, 81: 86-90.
- Vaughan J, Macmillan KL, D'Occhio MJ. Ovarian follicular wave characteristics in alpacas. *Anim Reprod Sci* 2004; 80:353-361.